



Un Libro Blanco elaborado por FOSS

¿Dumas o Kjeldahl para el análisis de referencia?

Comparación y consideraciones para el análisis del nitrógeno/las proteínas de los alimentos y el pienso

Autor: Dr. Jürgen Müller

El método Dumas

El método de combustión Dumas es un método completo que sirve para determinar el contenido total de nitrógeno en una matriz habitualmente orgánica. La muestra se combustiona a una temperatura alta en una atmósfera de oxígeno. A través de subsiguientes tubos de oxidación y reducción, el nitrógeno se convierte cuantitativamente en N_2 . El resto de los productos volátiles de la combustión se aíslan o se separan. Un detector de conductividad térmica mide el gas nitrógeno. Los resultados se indican en forma de porcentaje o en mg de nitrógeno, que se puede convertir en proteínas mediante el uso de factores de conversión (tabla 1).

Tabla 1: Factores de conversión de nitrógeno a proteínas (ejemplos de la norma ISO 16634-1:2008)

Materia prima	Factor de conversión
Cebada	5,88
Harina de coco	5,30
Avena	5,50
Arroz	5,95
Centeno	5,83
Girasol (semilla, harina)	5,30
Semillas de soja (semillas, harina o productos)	5,71
Triticale	5,78
Harina (harina integral, harina o bulgur)	5,83
Trigo (salvado)	5,26

Según la norma ISO/TS 16634-2:2009, el factor de conversión generalmente aceptado para el producto analizado es equivalente a 5,7 para el trigo, el centeno y sus productos molidos y a 6,25 para el resto de los productos que entren dentro del alcance de esta norma ISO.

Durante la década de los 90, el método Dumas ganó en reconocimiento en comparación con el método Kjeldahl tradicional, que fue el método dominante para el análisis de la proteína cruda durante más de 100 años.

El método Dumas tiene la ventaja de ser fácil de utilizar y estar automatizado. También es considerablemente más rápido que el método Kjeldahl: cada medición tarda unos minutos, en contraposición con la hora o más del método Kjeldahl. Asimismo, no utiliza productos químicos tóxicos ni perjudiciales ni catalizadores. El método Kjeldahl emplea ácido sulfúrico concentrado y un catalizador para la digestión de las muestras. Cuando se prohibió el uso de mercurio y cadmio en el laboratorio en la mayoría de los países durante la década de los 90, muchos laboratorios evaluaron el método Dumas como una alternativa y se han realizado numerosos estudios comparativos. Uno de los resultados de este reconocimiento ha sido una serie de normas internacionales (tabla 2). Igualmente, los servicios de inspección del grano en EE. UU., Canadá y Australia reconocieron el método Dumas.

Puesto que el método Dumas determina el nitrógeno total, incluidas las fracciones inorgánicas como el nitrito y el nitrato, y el método Kjeldahl solo el nitrógeno orgánico y el amonio, en los estudios comparativos se produjeron diferencias en los resultados. El método Kjeldahl no recupera todo el nitrógeno orgánico y tiene problemas especialmente con la recuperación de los compuestos n-nitrosos heterocíclicos como, por ejemplo, el ácido nicotínico. Esto no se ha considerado un problema, puesto que en las determinaciones de la proteína cruda, el principal problema era la conversión del nitrógeno alfa amino de aminoácidos a amonio. Históricamente, los factores de conversión

de nitrógeno a proteínas para el método tradicional Kjeldahl se han establecido a partir del patrón de aminoácidos de la muestra. Para las muestras de pienso y alimentos con una composición variable, se acordó un factor general de 6,25. Cuando se utilizan los mismos factores de conversión para técnicas con distintas recuperaciones de nitrógeno, se pueden producir diferencias en los resultados.

Tabla 2: Estándares para la medición del nitrógeno total y las proteínas en los alimentos y el pienso utilizando el método Dumas

Referencia del método	Título (matriz)
ISO 16634-1:2008	Productos alimentarios: determinación del contenido en nitrógeno total por combustión de acuerdo con el principio Dumas y el cálculo del contenido de proteína cruda -- Parte 1: Semillas oleaginosas y piensos animales
ISO/TS 16634-2:2009	Productos alimentarios: determinación del contenido en nitrógeno total por combustión de acuerdo con el principio Dumas y el cálculo del contenido de proteína cruda -- Parte 2: Cereales, legumbres y productos de cereales molidos
ISO 14891:2008 (IDF 185:2008)	Leche y productos lácteos: determinación del contenido en nitrógeno - Método rutinario mediante combustión de acuerdo con el principio Dumas
AACC Método 46.30	Proteína cruda: Método por combustión (piensos animales, cereales y semillas oleaginosas)
Estándar de ICC n.º 167	Determinación de la proteína cruda en el grano y en los productos de grano para los alimentos y el pienso a través del principio de combustión Dumas
AOAC 990.03	Proteína (cruda) en los piensos animales - Método de combustión
AOAC 992.23	Proteína cruda en los cereales, granos y semillas oleaginosas
AOAC 997.09	Nitrógeno en la cerveza, el mosto y los granos para la fabricación de cerveza - Proteína (total) mediante el cálculo - Método de combustión
AOCS Ba 4e-93	Método de combustión genérico para la determinación de la proteína cruda (subproductos de semillas oleaginosas)
AOCS Ba 4f-00	Método de combustión para la determinación de proteína cruda en la harina de soja
OIV-MA-AS323-02A	Cuantificación del nitrógeno total de acuerdo con el método Dumas en mostos y vinos (método Tipo II)

AOAC = AOAC International, Washington DC/EE. UU. , AOCs = American Oil Chemists' Society, Champaign IL/EE. UU., AACC = American Association of Cereal Chemists, St. Paul MN/EE. UU., ISO = International Organization for Standardization, Ginebra/Suiza, IDF = International Dairy Federation, Bruselas/Bélgica, ICC = International Association for Cereal Science and Technology, Viena/Austria, OIV = International Organisation of Vine and Wine, París/Francia

Los métodos Dumas y Kjeldahl desembocarán en resultados distintos, en función del contenido no proteico-nitroso de la muestra analizada y del grado en el que se recuperen por cada método correspondiente. Por ejemplo, en una muestra de lechuga con un contenido en nitrato de 33 000 mg/kg de materia seca, esto corresponderá al 0,75 % de nitrógeno o al 4,7 % de proteína cruda (factor 6,25).

El PTS de la AAFCO (American Association of Feed Control Officials) es uno de los programas de pruebas de capacidad más exhaustivos en el que participan unos 300 laboratorios y más de 100 métodos recopilados. En la tabla 3 se muestran los resul-

tados para algunas muestras de pienso. Para el método Kjeldahl, se han seleccionado los valores para el método de referencia AOAC 2001.11. Como se puede apreciar, las desviaciones estándar de los resultados recopilados (entre paréntesis) son comparables, pero el método Dumas obtiene unos valores más altos.

Tabla 3: Comparación de los valores de proteína cruda obtenidos para las muestras de pruebas de capacidad de la AAFCO

Muestra	Type	Kjeldahl	Dumas
AAFCO 200921	Pollo	17,29 (0,15)	17,64 (0,33)
AAFCO 200922	Pienso de arranque porcino	23,94 (0,33)	24,51 (0,39)
AAFCO 200923	Comida	12,3 (0,52)	12,51 (0,65)

Durante cinco cosechas consecutivas (200-2004), el Max Rubner Institute de Detmold, Alemania, llevó a cabo un estudio exhaustivo con más de 800 muestras de trigo en las que comparó los resultados de proteína cruda entre los métodos Kjeldahl y Dumas. Concluyeron que aproximadamente el 2 % de la "proteína de Dumas" no estaba determinada por el método Kjeldahl y presentaron la siguiente relación entre los valores proteicos de Dumas y Kjeldahl:

$$\text{Kjeldahl} = 0,959 * \text{Dumas} + 0,258$$

Puesto que la diferencia entre los métodos no solo depende de la campaña agraria y la variedad cultivada, sino también de las condiciones de la siembra (por ejemplo, lluvia, fertilización), esta fórmula no se podía utilizar, por lo general, para convertir resultados.

Se han señalado numerosos estudios comparativos más. Simonne et al. (1) concluyeron que el método Dumas puede sustituir al método Kjeldahl para la determinación de la proteína cruda en grupos de alimentos seleccionados cuando se emplean cocientes adecuados. Sugirieron unos factores de corrección de 1,01 para los lácteos, 1,00 para las semillas oleaginosas, 0,99 para el pienso, 0,98 para las fórmulas para bebés, 0,95 para los cereales, 0,94 para las harinas, 0,89 para las verduras, 0,80 para el pescado y 0,73 para la fruta cuando se calcula la proteína cruda utilizando los resultados del método Dumas.

Hay otros que creen que es difícil gestionar la sobreestimación y, para evitar conflictos comerciales, la Comisión Europea confirmó el método Kjeldahl como el método comunitario para los controles oficiales (Reglamento de la Comisión (CE) N.º 152/2009).

Con relación a la selectividad, las interferencias y la susceptibilidad a la adulteración, hay que tener en cuenta que el método Dumas recupera cuantitativamente todas las formas de nitrógeno, orgánico e inorgánico, durante el análisis y es específico del nitrógeno total, carece de cualquier grado de selectividad para la proteína. Por ello, el método es susceptible de adulteración por parte de todos los compuestos orgánicos e inorgánicos que contienen nitrógeno.

Al igual que el método Kjeldahl, no proporciona una medición de la proteína auténtica, puesto que registra el nitrógeno no proteico, y se precisan distintos factores de corrección para distintas proteínas, puesto que tienen distintas secuencias de aminoácidos (2). De hecho, estos algoritmos de corrección apenas se usan en los laboratorios rutinarios. En la mayoría de los casos, se utilizan los mismos factores para convertir los valores Dumas y Kjeldahl en proteína cruda.

Con el fin de evitar conflictos y malentendidos en las situaciones comerciales, resulta por lo tanto importante indicar claramente el método que hay que utilizar para las determinaciones de la proteína cruda. En contextos oficiales, en los que el Kjeldahl sigue siendo el método que goza de más reconocimiento, el Dumas se puede utilizar si las diferencias para el tipo de muestras analizadas son insignificantes. También es importante ser consciente de estas diferencias a la hora de establecer y validar las calibraciones NIR.

Resumen

A la hora de estimar el contenido de proteína cruda en los alimentos y en el pienso, existe una tendencia clara hacia el método de combustión Dumas, ya que ofrece unos tiempos de análisis más cortos, un funcionamiento sencillo y una mayor seguridad en comparación con el método Kjeldahl. Ambos métodos ofrecen una precisión similar, pero el Kjeldahl sigue siendo el que goza de mayor reconocimiento y puede ser muy eficaz cuando se ejecuta en lotes. Ambos métodos son susceptibles de sufrir adulteraciones.

Referencias:

(1) A H Simonne, E H Simonne, R R Eitenmiller, H A Mills and C P Cresman: *Could the Dumas Method Replace the Kjeldahl Digestion for Nitrogen and Crude Protein Determinations in Foods?* Journal of the Science of Food and Agriculture, Volumen 73, Número 1, páginas 39–45, enero de 1997

(2) Jeffrey C. Moore, Jonathan W. DeVries, Markus Lipp, James C. Griffiths and Darrell R. Abernethy: *Total Protein Methods and Their Potential Utility to Reduce the Risk of Food Protein Adulteration*, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Volumen 9, Número 4, páginas 330–357, julio de 2010

FOSS

FOSS
Josep Tarradellas 8-10
08029 -BARCELONA
España

Tel.: +34 934 949 940
Fax: +34 934 052 176

infofoss@foss.es
www.fossanalytics.com